

**19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

12 Offenlegungsschrift
 10 DE 100 38 049 A 1

21 Aktenzeichen: 100 38 049.2
 22 Anmeldetag: 2. 8. 2000
 43 Offenlegungstag: 14. 2. 2002

Int. Cl.⁷:
G 01 J 3/36
G 01 N 21/25

DE 100 38 049 A 1

71 Anmelder:
Leica Microsystems Heidelberg GmbH, 68165
Mannheim, DE

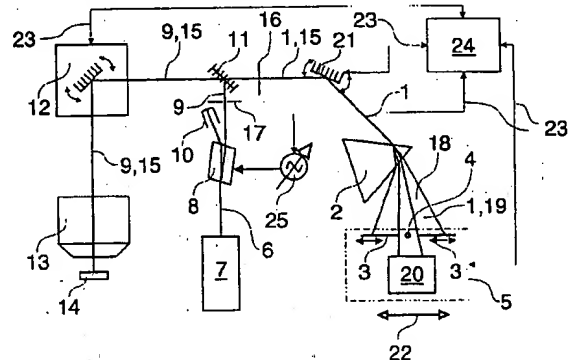
⑦④ Vertreter: Ullrich & Naumann, 69115 Heidelberg

⑦2 Erfinder:
Knebel, Werner Dr., 76709 Kronau, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

54) Optische Anordnung zur Selektion und Detektion des Spektralbereichs eines Lichtstrahls

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft eine optische Anordnung zur Selektion und Detektion des Spektralbereichs eines Lichtstrahls (1) in einem konfokalen Rastermikroskop, mit einem Mittel (2) zur spektralen Zerlegung des Lichtstrahls (1), mit Mitteln (3) zum Selektieren eines vorgebbaren spektralen Bereichs (4) und mit einer Detektionsvorrichtung (5). Die optische Anordnung sollte von einem zu detektierenden spektralen Bereich mehrere schmalbandige spektrale Bereiche möglichst lückenlos und in variabel einstellbaren Schritten abtasten bzw. detektieren können. Weiterhin sollte eine schnelle und variable spektrale Detektion möglich sein, die gleichzeitig kostengünstig realisierbar ist. Die erfindungsgemäße optische Anordnung ist dadurch gekennzeichnet, dass zur Beeinflussung des zu detektierenden spektralen Bereichs (4, 18) der spektral zerlegte Lichtstrahl (19) und die Detektionsvorrichtung (5) relativ zueinander in ihrer Position veränderbar sind.



DE 100 38 049 A 1

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft eine optische Anordnung zur Selektion und Detektion des Lichts eines Spektralbereichs eines Lichtstrahls in einem konfokalen Rastermikroskop, mit einem Mittel zur spektralen Zerlegung des Lichtstrahls, mit Mitteln zum Selektieren eines vorgebbaren spektralen Bereichs und mit einer Detektionsvorrichtung.

[0002] Anordnungen der gattungsbildenden Art sind aus der DE 43 30 347 und der DE 199 02 625 bekannt. Diese Anordnungen werden vorzugsweise im Strahlengang konfokaler Laserscanning-Mikroskope eingesetzt. Hierbei wird ein das Detektionsspinhole passierender Lichtstrahl mit einem Mittel zur spektralen Zerlegung spektral aufgefächert. Ein Teil des spektral aufgefächerten Lichtstrahls kann dann eine erste variabel angeordnete Spiegelblendenanordnung passieren. Der entsprechende spektrale Bereich wird dann von einem Detektor detektiert. Der Anteil des aufgefächerten Lichtstrahls, der auf die erste Spiegelblendenanordnung auftrifft, wird an ihr zu einer weiteren Spiegelblendenanordnung reflektiert. Auch an der weiteren Spiegelblendenanordnung kann ein Teil des an der ersten Spiegelblendenanordnung reflektierten spektral aufgefächerten Lichtstrahls passieren, der mit einem weiteren Detektor detektiert wird. Der verbleibende Teil wird mit der weiteren Spiegelblendenanordnung zu einem dritten Detektor reflektiert, dem gegebenenfalls eine weitere Spiegelblendenanordnung vorgeordnet ist.

[0003] Die bekannten optischen Anordnungen verwenden zur Detektion verschiedener Spektralbereiche mehrere Detektionskanäle. Jeder Detektionskanal ist üblicherweise mit einem eigenen Detektor ausgerüstet, was mit zum Teil erheblichen Kosten verbunden ist. Mit den bekannten optischen Anordnungen ist es ferner möglich, simultan mehrere Spektralbereiche zu detektieren, jedoch ist eine Detektion zahlreicher schmalbandiger Spektralbereiche mit den bekannten Anordnungen simultan nicht ohne weiteres möglich. Insbesondere wenn der gesamte Spektralbereich von beispielsweise 500 nm bis 800 nm in 5 nm-Schritten zu detektieren ist, ist eine mechanische Verstellung der variabel angeordneten Spiegelblenden erforderlich, was relativ viel Zeit in Anspruch nimmt.

[0004] Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine optische Anordnung der gattungsbildenden Art anzugeben und weiterzubilden, die von einem zu detektierenden spektralen Bereich mehrere schmalbandige spektrale Bereiche möglichst lückenlos und in variabel einstellbaren Schritten abtasten bzw. detektieren kann. Weiterhin sollte eine schnelle und variable spektrale Detektion möglich sein, die gleichzeitig kostengünstig realisierbar ist.

[0005] Das erfindungsgemäße Verfahren der gattungsbildenden Art löst die voranstehende Aufgabe durch die Merkmale des Patentanspruchs 1. Danach ist eine solche Anordnung dadurch gekennzeichnet, dass zur Beeinflussung des zu detektierenden spektralen Bereichs der spektral zerlegte Lichtstrahl und die Detektionsvorrichtung relativ zueinander in ihrer Position veränderbar sind.

[0006] Erfindungsgemäß ist zunächst erkannt worden, dass eine schnelle und variable spektrale Detektion durch eine relative Positionsänderung erzielt werden kann, und zwar ohne jedesmal mindestens eine Spiegelblende mechanisch zu bewegen. Durch diese relative Positionsänderung ist es in vorteilhafter Weise möglich, den spektralen Detektionsbereich sehr viel schneller einzustellen, als das mit einer Spektralbereichsänderung durch die Mittel zum Selektieren des vorgebbaren Bereichs möglich ist, wodurch die Detektionszeit reduziert wird. Beispielsweise ist es insbe-

sondere bei der Selektion eines schmalbandigen spektralen Detektionsbereichs von 5 nm möglich, aufgrund der relativen Positionsänderung einen ausgedehnten Spektralbereich mit diesem eingestellten schmalbandigen Spektralbereich in Schritten von je 5 nm zu detektieren.

[0007] In einer bevorzugten Ausführungsform umfasst die Detektionsvorrichtung nur einen Detektor. Bei diesem Detektor könnte es sich beispielsweise um einen Photomultiplier handeln, die Verwendung einer Photodiode, insbesondere einer Avalanche-Photodiode, wäre ebenfalls denkbar. Aufgrund der relativen Positionsänderung des spektral zerlegten Lichtstrahls und der Detektionsvorrichtung kann in vorteilhafter Weise auf den Einsatz mehrerer Detektoren verzichtet werden, was die Herstellungskosten ganz erheblich reduziert. Letztendlich werden nicht nur zwei, drei oder vier Detektoren eingespart, sondern auch deren zum Teil aufwendige Stromversorgung sowie Auslesevorrichtungen mit der entsprechenden Peripherie. Darüber hinaus entfällt des weiteren die komplizierte räumliche Anordnung mehrerer Detektoren samt deren Mittel zum Selektieren des vorgebbaren spektralen Bereichs, so dass in weiterer vorteilhafter Weise die Produktion erheblich vereinfacht wird.

[0008] Die erfindungsgemäße relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl und der Detektionsvorrichtung bewirkt eine Veränderung der Anfangs- und/oder Endwellenlänge des spektral selektierten Bereichs. Wenn beispielsweise der spektral zerlegte Lichtstrahl relativ zur Detektionsvorrichtung lateral verschoben wird, so "sieht" der Detektor nach dieser Verschiebung einen spektralen Bereich, der eine andere Anfangs- und Endwellenlänge aufweist. Wenn die Dispersionseigenschaft des Mittels zur spektralen Zerlegung kleiner ist, bleibt in diesem Beispiel die Breite des zu detektierenden spektralen Bereichs unverändert, da die Lage der Mittel zum Selektieren des vorgebbaren spektralen Bereichs relativ zum Detektor nicht verändert wurden. Es gibt nun mehrere Möglichkeiten, die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl und der Detektionsvorrichtung durchzuführen.

[0009] In einer ersten Ausführungsform wird zur relativen Positionsänderung mindestens ein im Strahlengang angeordnetes optisches Bauteil gedreht oder verschoben. Bei dem optischen Bauteil handelt es sich vorzugsweise um einen Spiegel. Das Drehen eines im optischen Strahlengang angeordneten Spiegels könnte das zu detektierende Lichtbündel in der Pupille einer das Lichtbündel kollimierenden Linse verkippen. Der sich drehende Spiegel müsste im Detektionsstrahlengang der kollimierenden Linse vorgeordnet sein. Das gedrehte oder verschobene optische Bauteil ist im Detektionsstrahlengang vor dem Mittel zur spektralen Zerlegung angeordnet. Das Verkippen des Lichtbündels in der Pupille der kollimierenden Linse bewirkt eine laterale Verschiebung des auf die Detektionsvorrichtung auftreffenden spektral zerlegten Lichtstrahls.

[0010] In einer alternativen Ausführungsform erfolgt die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl und der Detektionsvorrichtung durch Drehen oder Verschieben des Mittels zur spektralen Zerlegung. Auch hierdurch kann der spektral zerlegte Lichtstrahl relativ zur Detektionsvorrichtung verschoben bzw. verändert werden.

[0011] Das optische Bauteil bzw. das Mittel zur spektralen Zerlegung könnte auch gedreht und verschoben werden. Hierdurch ergibt sich dann - abhängig von der Anordnung der Drehachse und der Ausgestaltung der Verschiebung - eine Verkipfung des optischen Bauteils bzw. des Mittels zur spektralen Zerlegung.

[0012] Die Drehung des Mittels zur spektralen Zerlegung

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft eine optische Anordnung zur Selektion und Detektion des Lichts eines Spektralbereichs eines Lichtstrahls in einem konfokalen Rastermikroskop, mit einem Mittel zur spektralen Zerlegung des Lichtstrahls, mit Mitteln zum Selektieren eines vorgebbaren spektralen Bereichs und mit einer Detektionsvorrichtung.

[0002] Anordnungen der gattungsbildenden Art sind aus der DE 43 30 347 und der DE 199 02 625 bekannt. Diese Anordnungen werden vorzugsweise im Strahlengang konfokaler Laserscanning-Mikroskope eingesetzt. Hierbei wird ein das Detektionspinhole passierender Lichtstrahl mit einem Mittel zur spektralen Zerlegung spektral aufgefächert. Ein Teil des spektral aufgefächerten Lichtstrahls kann dann eine erste variabel angeordnete Spiegelblendenanordnung passieren. Der entsprechende spektrale Bereich wird dann von einem Detektor detektiert. Der Anteil des aufgefächerten Lichtstrahls, der auf die erste Spiegelblendenanordnung auftrifft, wird an ihr zu einer weiteren Spiegelblendenanordnung reflektiert. Auch an der weiteren Spiegelblendenanordnung kann ein Teil des an der ersten Spiegelblendenanordnung reflektierten spektral aufgefächerten Lichtstrahls passieren, der mit einem weiteren Detektor detektiert wird. Der verbleibende Teil wird mit der weiteren Spiegelblendenanordnung zu einem dritten Detektor reflektiert, dem gegebenenfalls eine weitere Spiegelblendenanordnung vorgeordnet ist.

[0003] Die bekannten optischen Anordnungen verwenden zur Detektion verschiedener Spektralbereiche mehrere Detektionskanäle. Jeder Detektionskanal ist üblicherweise mit einem eigenen Detektor ausgerüstet, was mit zum Teil erheblichen Kosten verbunden ist. Mit den bekannten optischen Anordnungen ist es ferner möglich, simultan mehrere Spektralbereiche zu detektieren, jedoch ist eine Detektion zahlreicher schmalbandiger Spektralbereiche mit den bekannten Anordnungen simultan nicht ohne weiteres möglich. Insbesondere wenn der gesamte Spektralbereich von beispielsweise 500 nm bis 800 nm in 5 nm-Schritten zu detektieren ist, ist eine mechanische Verstellung der variabel angeordneten Spiegelblenden erforderlich, was relativ viel Zeit in Anspruch nimmt.

[0004] Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine optische Anordnung der gattungsbildenden Art anzugeben und weiterzubilden, die von einem zu detektierenden spektralen Bereich mehrere schmalbandige spektrale Bereiche möglichst lückenlos und in variabel einstellbaren Schritten abtasten bzw. detektieren kann. Weiterhin sollte eine schnelle und variable spektrale Detektion möglich sein, die gleichzeitig kostengünstig realisierbar ist. [0005] Das erfindungsgemäße Verfahren der gattungsbildenden Art löst die voranstehende Aufgabe durch die Merkmale des Patentanspruchs 1. Danach ist eine solche Anordnung dadurch gekennzeichnet, dass zur Beeinflussung des zu detektierenden spektralen Bereichs der spektral zerlegte Lichtstrahl und die Detektionsvorrichtung relativ zueinander in ihrer Position veränderbar sind.

[0006] Erfindungsgemäß ist zunächst erkannt worden, dass eine schnelle und variable spektrale Detektion durch eine relative Positionsänderung erzielt werden kann, und zwar ohne jedesmal mindestens eine Spiegelblende mechanisch zu bewegen. Durch diese relative Positionsänderung ist es in vorteilhafter Weise möglich, den spektralen Detektionsbereich sehr viel schneller einzustellen, als das mit einer Spektralbereichsänderung durch die Mittel zum Selektieren des vorgebbaren Bereichs möglich ist, wodurch die Detektionszeit reduziert wird. Beispielsweise ist es insbe-

sondere bei der Selektion eines schmalbandigen spektralen Detektionsbereichs von 5 nm möglich, aufgrund der relativen Positionsänderung einen ausgedehnten Spektralbereich mit diesem eingestellten schmalbandigen Spektralbereich in Schritten von je 5 nm zu detektieren.

[0007] In einer bevorzugten Ausführungsform umfasst die Detektionsvorrichtung nur einen Detektor. Bei diesem Detektor könnte es sich beispielsweise um einen Photomultiplier handeln, die Verwendung einer Photodiode, insbesondere einer Avalanche-Photodiode, wäre ebenfalls denkbar. Aufgrund der relativen Positionsänderung des spektral zerlegten Lichtstrahls und der Detektionsvorrichtung kann in vorteilhafter Weise auf den Einsatz mehrerer Detektoren verzichtet werden, was die Herstellungskosten ganz erheblich reduziert. Letztendlich werden nicht nur zwei, drei oder vier Detektoren eingespart, sondern auch deren zum Teil aufwendige Stromversorgung sowie Auslesevorrichtungen mit der entsprechenden Peripherie. Darüber hinaus entfällt das weitere die komplizierte räumliche Anordnung mehrerer Detektoren samt deren Mittel zum Selektieren des vorgebbaren spektralen Bereichs, so dass in weiterer vorteilhafter Weise die Produktion erheblich vereinfacht wird.

[0008] Die erfindungsgemäße relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl und der Detektionsvorrichtung bewirkt eine Veränderung der Anfangs- und/oder Endwellenlänge des spektral selektierten Bereichs. Wenn beispielsweise der spektral zerlegte Lichtstrahl relativ zur Detektionsvorrichtung lateral verschoben wird, so "sieht" der Detektor nach dieser Verschiebung einen spektralen Bereich, der eine andere Anfangs- und Endwellenlänge aufweist. Wenn die Dispersionseigenschaft des Mittels zur spektralen Zerlegung kleiner ist, bleibt in diesem Beispiel die Breite des zu detektierenden spektralen Bereichs unverändert, da die Lage der Mittel zum Selektieren des vorgebbaren spektralen Bereichs relativ zum Detektor nicht verändert wurden. Es gibt nun mehrere Möglichkeiten, die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl und der Detektionsvorrichtung durchzuführen.

[0009] In einer ersten Ausführungsform wird zur relativen Positionsänderung mindestens ein im Strahlengang angeordnetes optisches Bauteil gedreht oder verschoben. Bei dem optischen Bauteil handelt es sich vorzugsweise um einen Spiegel. Das Drehen eines im optischen Strahlengang angeordneten Spiegels könnte das zu detektierende Lichtbündel in der Pupille einer das Lichtbündel kollimierenden Linse verkippen. Der sich drehende Spiegel müßte im Detektionsstrahlengang der kollimierenden Linse vorgeordnet sein. Das gedrehte oder verschobene optische Bauteil ist im Detektionsstrahlengang vor dem Mittel zur spektralen Zerlegung angeordnet. Das Verkippen des Lichtbündels in der Pupille der kollimierenden Linse bewirkt eine laterale Verschiebung des auf die Detektionsvorrichtung auftreffenden spektral zerlegten Lichtstrahls.

[0010] In einer alternativen Ausführungsform erfolgt die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl und der Detektionsvorrichtung durch Drehen oder Verschieben des Mittels zur spektralen Zerlegung. Auch hierdurch kann der spektral zerlegte Lichtstrahl relativ zur Detektionsvorrichtung verschoben bzw. verändert werden.

[0011] Das optische Bauteil bzw. das Mittel zur spektralen Zerlegung könnte auch gedreht und verschoben werden. Hierdurch ergibt sich dann - abhängig von der Anordnung der Drehachse und der Ausgestaltung der Verschiebung - eine Verkipfung des optischen Bauteils bzw. des Mittels zur spektralen Zerlegung.

[0012] Die Drehung des Mittels zur spektralen Zerlegung

sowie des obengenannten optischen Bauteils könnte unter Verwendung eines Galvanometers erfolgen. Das zu drehende Bauteil könnte direkt an das Galvanometer gekoppelt sein. Vorzugsweise ist es auf dessen mechanischer Drehachse befestigt. Alternativ hierzu könnte die Drehung der zu drehenden Bauteile durch den Einsatz von Piezoelementen erfolgen. Diese Drehung könnte über einen mechanischen Hebel bewirkt werden, wobei der Hebel beispielsweise relativ zur Drehachse radial verläuft und das Piezoelement zwischen einem ortsfesten Gehäuseteil und dem mechanischen Hebel wirkt. Hierbei ist eine Drehung des Bauteils in die beiden entgegengesetzten Drehrichtungen erforderlich, wobei der mechanische Hebel mit dem Piezoelement derart gekoppelt ist, dass das Piezoelement den Hebel sowohl drücken als auch ziehen kann.

[0013] In einer weiteren Ausführungsform ist vorgesehen, dass die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl und der Detektionsvorrichtung durch eine Relativbewegung der Detektionsvorrichtung erfolgt. Hierbei kann die Relativbewegung der Detektionsvorrichtung entweder gradlinig oder auf einem Bogen erfolgen. Im Allgemeinen werden die Mittel zum Selektieren des vorgebbaren spektralen Bereichs – also beispielsweise die Spaltblendenanordnung – mitsamt dem Detektor bewegt. Die Detektionsvorrichtung umfasst in diesem Fall die Mittel zum Selektieren des vorgebbaren Bereichs und den Detektor. Falls die Relativbewegung über eine Strecke erfolgt, die kleiner als die nutzbare Ausdehnung des Detektors ist, könnten in vorteilhafter Weise auch lediglich die Mittel zum Selektieren des vorgebbaren spektralen Bereichs bewegt werden.

[0014] In einer besonders vorteilhafter Weise erfolgt die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl und der Detektionsvorrichtung durch eine kombinierte Winkel-/Lageänderung mindestens zweier optischer Bauteile. Durch die kombinierte bzw. simultane Positionsänderung, beispielsweise eines sich drehenden Spiegels mit der Relativbewegung der Detektionsvorrichtung, ist eine beschleunigte Detektion bei veränderter spektraler Detektionseinstellung möglich. So könnten kombiniert ein im Strahlengang angeordnetes optisches Bauteil sowie das Mittel zum spektralen Zerlegen und die Detektionsvorrichtung jeweils eine Winkel- und/oder Lageänderung durchführen, wobei die Frequenzen der jeweiligen Winkel-/Lageänderung in fester Beziehung zueinander stehen können. Beispielsweise dreht das zweite Bauteil mit der doppelten Frequenz des ersten Bauteils und die Detektionsvorrichtung wird mit einer dreifachen Frequenz der Drehbewegung des ersten Bauteils bewegt.

[0015] Als Mittel zur spektralen Zerlegung ist ein Prisma, ein Reflexions- oder eine Transmissionsgitter vorgesehen. Die Verwendung eines Prismas zur spektralen Zerlegung hat den Vorteil, dass die Streulichtanteile bei einem Prisma verglichen zu einem Gitter geringer sind, so dass ein Prisma zur spektralen Zerlegung für die erfindungsgemäße Anordnung bevorzugt wird. Ein Reflexions- oder Transmissionsgitter wäre dann zu bevorzugen, wenn die Streulichtanteile detektorseitig eine untergeordnete Rolle spielen, jedoch das Mittel zur spektralen Zerlegung also das Gitter aufgrund der geringeren Masse mit einer hohen Frequenz gedreht bzw. verschoben werden soll.

[0016] In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl und der Detektionsvorrichtung mit dem Rastervorgang des konfokalen Rastermikroskops synchronisierbar. Hierdurch kann die spektrale Detektion in Abhängigkeit der jeweiligen Rasterposition des konfokalen Rastermikroskops während des Scanvorgangs verändert

werden, wodurch in besonders vorteilhafter Weise für jeden Objektpunkt beispielsweise die spektrale Verteilung des von dem Objektpunkt emittierten Fluoreszenzlichts detektiert werden kann.

[0017] In einer konkreten Ausführungsform ist vorgesehen, dass mit dem konfokalen Rastermikroskop ein Objektausschnitt bei verschiedenen spektralen Detektionseinstellungen wiederholt solange jeweils abgerastert wird, bis der gesamte zu detektierende Spektralbereich detektiert ist. Erst dann wird ein nächster Objektausschnitt abgerastert. Ein Objektausschnitt könnte ein Punkt, eine Linie, eine Gerade, eine Fläche oder ein dreidimensionaler Bereich sein. Beispielsweise könnte eine Linienrasterung derart ausgestaltet sein, dass der spektrale Detektionsbereich eine Breite von 5 nm aufweist. Der für die Detektion insgesamt verfügbare Spektralbereich verläuft von 500 nm bis 800 nm. Der vorgebbare spektrale Detektionsbereich wird nun zu Beginn der Linienrasterung derart eingestellt, dass der Detektor den spektralen Bereich von 500 nm bis 505 nm detektiert. Nachdem die abzurasternde Linie das Objekt ein erstes Mal abgerastert hat, wird durch die relative Positionsänderung des spektral zerlegten Lichtstrahls und der Detektionsvorrichtung ein zu detektierender spektraler Bereich von 505 nm bis 510 nm eingestellt, der von dem Detektor detektiert wird. Es ist vorgesehen, dass die gleiche Linie des Objekts so oft abgerastert wird, bis das Detektionslicht des vorgegebenen spektralen Bereichs von 5 nm lückenlos bis zu der höchsten zu detektierenden Wellenlänge von 800 nm detektiert wurde. Diese Vorgehensweise ist auch bei einer beliebig ausgeformten oder gekrümmten Linie eines Objekts denkbar. Hinsichtlich der Fläche ist ein Rechteck oder ein beliebig begrenztes zweidimensionales Gebiet vorgesehen.

[0018] Die Synchronisation der relativen Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl und der Detektionsvorrichtung mit dem Rastervorgang des konfokalen Rastermikroskops umfasst in vorteilhafter Weise auch die Wahl der in das Rastermikroskop einzukoppelnden Lichtwellenlänge. Beispielsweise ist es bei der konfokalen Fluoreszenz-Rastermikroskopie denkbar, dass während der oben beschriebenen Linienrasterung passend zu dem jeweilig eingestellten spektralen Detektionsbereich Licht der entsprechenden Anregungswellenlänge des für diesen spektralen Detektionsbereich in Frage kommenden Fluoreszenzfarbstoffs in das Rastermikroskop eingekoppelt wird. Die Einkopplung des Lichts der entsprechenden Wellenlänge erfolgt hierbei mit einem akusto-optischen Bauteil, beispielsweise einem AOTF (Acousto-Optical-Tunable-Filter) oder einem AOBs (Acousto-Optical-Beam-Splitter). Mit einem AOTF bzw. AOBs ist es möglich, Licht einer bestimmten Wellenlänge selektiv in das konfokale Rastermikroskop einzukoppeln, wobei auch Licht mehrerer Wellenlängen simultan einkoppelbar sind und die Lichtleistung des Lichts der jeweiligen Wellenlänge mit dem AOTF bzw. AOBs regelbar ist.

[0019] Es gibt nun verschiedene Möglichkeiten, die Lehre der vorliegenden Erfindung in vorteilhafter Weise auszugestalten und weiterzubilden. Dazu ist einerseits auf die dem Patentanspruch 1 nachgeordneten Patentansprüche und andererseits auf die nachfolgende Erläuterung des bevorzugten Ausführungsbeispiels der Erfindung anhand der Zeichnung zu verweisen. In Verbindung mit der Erläuterung des bevorzugten Ausführungsbeispiels der Erfindung anhand der Zeichnung werden auch im Allgemeinen bevorzugte Ausgestaltungen und Weiterbildungen der Lehre erläutert. In der Zeichnung zeigt

[0020] Figur eine schematische Darstellung eines Ausführungsbeispiels der erfindungsgemäßen optischen Anordnung.

[0021] Die Figur zeigt eine optische Anordnung zur Selektion und Detektion des Spektralbereichs eines Lichtstrahls 1 in einem konfokalen Rastermikroskop, mit einem Mittel 2 zur spektralen Zerlegung des Lichtstrahls 1, mit Mitteln 3 zum Selektieren eines vorgebbaren spektralen Bereichs 4 und mit einer Detektionsvorrichtung 5.

[0022] Bei dem in der Figur gezeigten konfokalen Rastermikroskop wird Laserlicht 6 der Laserlichtquelle 7 mit Hilfe eines AOTF's 8 in den Beleuchtungsstrahlengang 9 des konfokalen Rastermikroskops eingekoppelt. Das nicht eingekoppelte Laserlicht wird von der Strahlfalle 10 absorbiert. Das eingekoppelte Laserlicht 9 wird an dem dichroitischen Strahlteiler 11 zur Strahlableitvorrichtung 12 reflektiert, bei der das Beleuchtungslicht 9 in zwei im wesentlichen senkrecht zueinander stehenden Richtungen abgelenkt wird. Das Beleuchtungslicht durchläuft die Mikroskopoptik 13 und beleuchtet das schematisch gezeichnete Fluoreszenzobjekt 14. Das vom Fluoreszenzobjekt 14 emittierte Fluoreszenzlicht 15 durchläuft den Strahlengang in umgekehrter Reihenfolge bis zum dichroitischen Strahlteiler 11.

[0023] Nach dem Passieren des Detektionspinholes 16, das in einer zur Ebene des Anregungspinholes 17 korrespondierenden Fokusebene angeordnet ist, wird das Fluoreszenzlicht 15 bzw. 1 zur weiteren Detektion von der erfindungsgemäßen optischen Anordnung weiterverarbeitet.

[0024] Erfindungsgemäß sind zur Beeinflussung des zu detektierenden spektralen Bereichs 4, 18 der spektral zerlegte Lichtstrahl 19 und die Detektionsvorrichtung 5 relativ zueinander in ihrer Position veränderbar. Die Detektionsvorrichtung 5 umfasst einen einzigen Detektor 20.

[0025] Die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl 19 und der Detektionsvorrichtung 5 bewirkt eine Veränderung der Anfangs- und/oder Endwellenlänge des spektral selektierten Bereichs 4. Die relative Positionsänderung erfolgt durch Drehen des im Detektionsstrahlengang 15 angeordneten Spiegels 21. Der Spiegel 21 ist vor dem Mittel 2 zur spektralen Zerlegung angeordnet. Die Drehung des Spiegels 21 erfolgt um die senkrecht zur Zeichenebene verlaufende Drehachse 26.

[0026] Zur relativen Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl 19 und der Detektionsvorrichtung 5 ist weiterhin eine Relativbewegung der Detektionsvorrichtung 5 vorgesehen. Die Detektionsvorrichtung 5 wird entlang der Richtung 22 geradlinig bewegt. Somit werden der Detektor 5 und die Mittel 3 zum Selektieren des vorgebbaren Bereichs 4 gemeinsam verschoben.

[0027] In diesem Ausführungsbeispiel werden also zwei optische Bauteile, der Spiegel 21 und die Detektionsvorrichtung 5, einer kombinierten Winkel- und Lageänderung unterzogen. Hierbei erfolgt die Bewegung der Detektionsvorrichtung 5 verglichen zur Drehbewegung des Spiegels 21 langsam.

[0028] Zur spektralen Zerlegung des Lichtstrahls 15 dient ein Prisma 2.

[0029] Mit Hilfe der Verbindungen 23 ist die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl 19 und der Detektionsvorrichtung 5 mit dem Rastervorgang des konfokalen Rastermikroskops synchronisierbar. Die aktuelle Position der Strahlableitvorrichtung 12 wird über die Synchronisationsverbindung 23 dem Steuerrechner 24 des konfokalen Rastermikroskops übergeben, der in Abhängigkeit der aktuellen Strahlposition der Strahlableitvorrichtung 12 den Spiegel 21 sowie die Detektionsvorrichtung 5 bewegt. Der Steuerrechner 24 des konfokalen Rastermikroskops ist ebenfalls über eine Verbindung 23 mit der Detektionsvorrichtung 25 des AOTF's 8 verbunden, so dass die Wahl der in das Rastermikroskop einzukoppelnden Lichtwellenlänge ebenfalls synchron zur relativen Positionsänderung

zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl 19 und der Detektionsvorrichtung 5 möglich ist.

[0030] Abschließend sei ganz besonders darauf hingewiesen, dass das voranstehend erörterte Ausführungsbeispiel lediglich zur Beschreibung der beanspruchten Lehre dient, diese jedoch nicht auf das Ausführungsbeispiel einschränkt.

Bezugszeichenliste

- 1 Lichtstrahl
- 2 Mittel zur spektralen Zerlegung, Prisma
- 3 Mittel zum Selektieren von (4)
- 4 vorgebbarer spektraler Bereich
- 5 Detektionsvorrichtung
- 6 Laserlicht
- 7 Laserlichtquelle
- 8 AOTF
- 9 Beleuchtungsstrahlengang
- 10 Strahlfalle
- 11 dichroitischer Strahlteiler
- 12 Strahlableitvorrichtung
- 13 Mikroskopoptik
- 14 Objekt
- 15 Fluoreszenzlicht, Detektionsstrahlengang
- 16 Detektionspinhole
- 17 Anregungspinhole
- 18 zu detektierender spektraler Bereich
- 19 spektral zerlegter Lichtstrahl
- 20 Detektor
- 21 Spiegel
- 22 Bewegungsrichtung von (5)
- 23 Synchronisationsverbindung zwischen (21) und (24), (12) und (24), (5) und (24), (25) und (24)
- 24 Steuerrechner des konfokalen Rastermikroskops
- 25 Steuervorrichtung von (8)
- 26 Drehachse von (21)

Patentansprüche

1. Optische Anordnung zur Selektion und Detektion des Lichts eines Spektralbereichs eines Lichtstrahls (1) in einem konfokalen Rastermikroskop, mit einem Mittel (2) zur spektralen Zerlegung des Lichtstrahls (1), mit Mitteln (3) zum Selektieren eines vorgebbaren spektralen Bereichs (4) und mit einer Detektionsvorrichtung (5), **dadurch gekennzeichnet**, dass zur Beeinflussung des zu detektierenden spektralen Bereichs (4, 18) der spektral zerlegte Lichtstrahl (19) und die Detektionsvorrichtung (5) relativ zueinander in ihrer Position veränderbar sind.
2. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Detektionsvorrichtung (5) nur einen Detektor (20) umfasst.
3. Anordnung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl (19) und der Detektionsvorrichtung (5) eine Veränderung der Anfangs- und/oder Endwellenlänge des spektral selektierten Bereichs (4) bewirkt.
4. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl (19) und der Detektionsvorrichtung (5) durch Drehen und/oder Verschieben mindestens eines im Strahlengang (15) angeordneten optischen Bauteils, vorzugsweise eines Spiegels (21), erfolgt.
5. Anordnung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (21) vor dem Mittel (2)

zur spektralen Zerlegung angeordnet ist.

6. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl (19) und der Detektionsvorrichtung (5) durch Drehen und/oder Verschieben des Mittels (2) zur spektralen Zerlegung erfolgt.

7. Anordnung nach Anspruch 4 oder 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Drehung unter Verwendung eines Galvanometers erfolgt.

8. Anordnung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass das zu drehende Bauteil (21, 2) direkt an dem Galvanometer, vorzugsweise auf dessen mechanischer Drehachse befestigt, gekoppelt ist.

9. Anordnung nach Anspruch 4 oder 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Drehung durch den Einsatz von Piezoelementen erfolgt.

10. Anordnung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass ein Piezoelement die Drehung über einen mechanischen Hebel bewirkt.

11. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl (19) und der Detektionsvorrichtung (5) durch eine Relativbewegung der Detektionsvorrichtung (5) erfolgt.

12. Anordnung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Relativbewegung der Detektionsvorrichtung (5) geradlinig oder auf einem Bogen verläuft.

13. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl (19) und der Detektionsvorrichtung (5) durch eine kombinierte Winkel-/Lageänderung mindestens zweier optischer Bauteile (21, 2, 5) erfolgt.

14. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass als Mittel (2) zur spektralen Zerlegung ein Prisma, ein Reflexions- oder ein Transmissionsgitter dient.

15. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass die relative Positionsänderung zwischen dem spektral zerlegten Lichtstrahl (19) und der Detektionsvorrichtung (5) mit dem Rastervorgang des konfokalen Rastermikroskops synchronisierbar ist.

16. Anordnung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass mit dem konfokalen Rastermikroskop ein Objektausschnitt bei verschiedenen spektralen Detektionseinstellungen wiederholt solange jeweils abgerastert wird, bis der gesamte zu detektierende Spektralbereich detektiert ist, bevor ein nächster Objektausschnitt abgerastert wird.

17. Anordnung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass der Objektausschnitt ein Punkt, eine Linie, eine Gerade, eine Fläche oder ein dreidimensionaler Bereich ist.

18. Anordnung nach einem der Ansprüche 14 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass die Synchronisation auch die Wahl der in das Rastermikroskop einzukoppelnden Lichtwellenlänge umfasst.

19. Anordnung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Wahl der einzukoppelnden Lichtwellenlänge mit einem akusto-optischen Bauteil, insbesondere einem AOTF (8) (Acousto-Optical-Tunable-Filter) oder einem AOB (Acousto-Optical-Beam-Splitter) erfolgt.

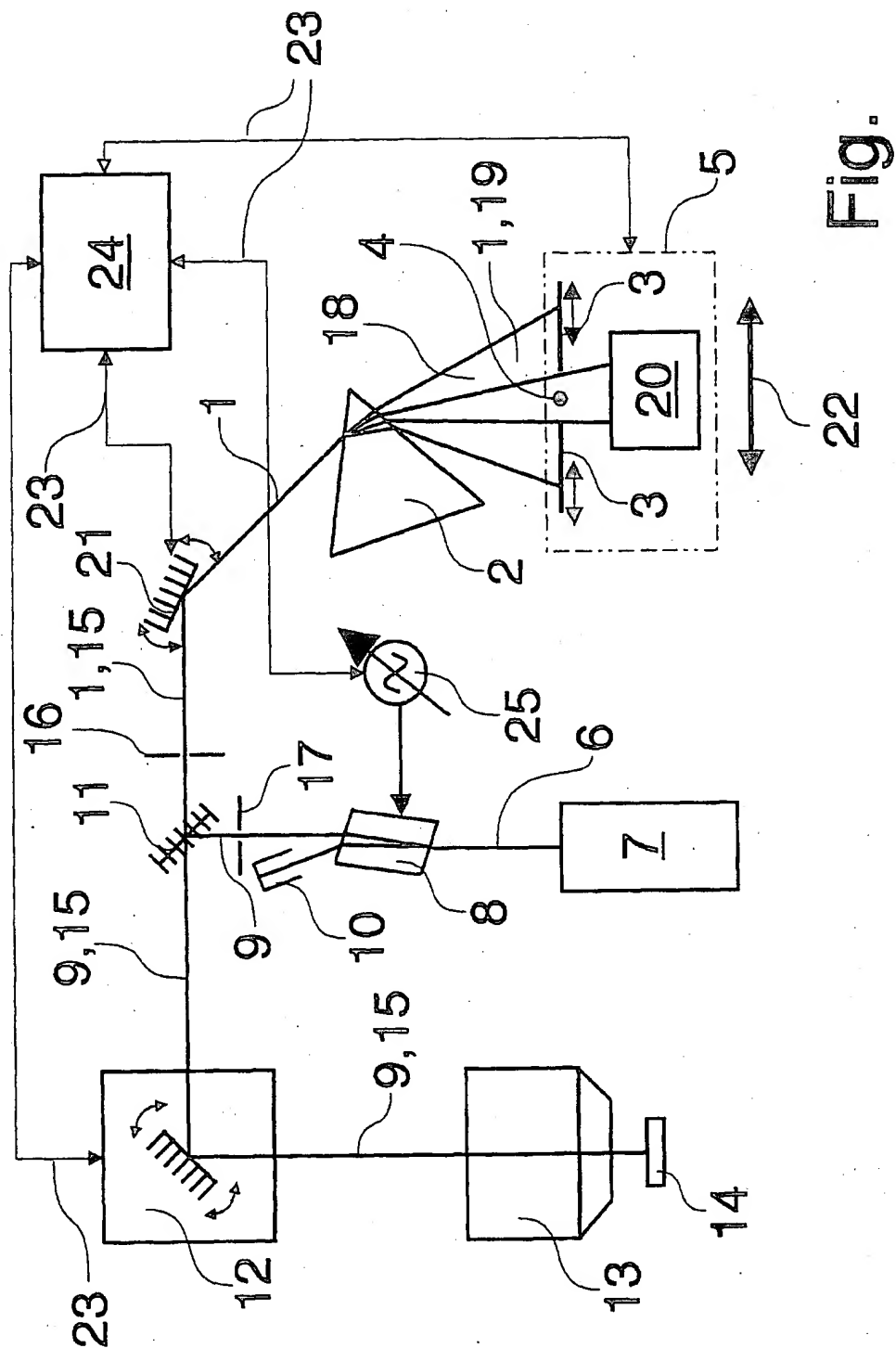


Fig.

